

중증 전작간증 태반 내 Junctional Protein에 대한 Ginsenoside Rk₁의 효과

연세대학교 의과대학 산부인과학교실¹, 연세대학교 자연과학대학 생화학과²

임승철¹ · 맹용선² · 권자영¹ · 강명화¹
황정혜¹ · 김영한¹ · 권영근² · 박용원¹

The effect of ginsenoside Rk₁ in junctional protein of severe preeclamptic placenta

Seung-Chul Lim, M.D.¹, Yong-Sun Maeng, M.D.², Ja-Young Kwon, M.D.¹,
Myoung Hwa Kang, M.D.¹, Jeong Hye Hyang, M.D.¹, Young-Han Kim, M.D.¹,
Young-Keun Kwon, Ph.D.², Yong-Won Park, M.D.¹

¹Department of Obstetrics and Gynecology, Yonsei University Health System, Seoul;

²Department of Biochemistry, Yonsei University, Seoul, Korea

Objective: To investigate the differential expression of junctional proteins in the normal and preeclamptic human placenta and the effect of ginsenoside Rk₁ in junctional proteins.

Methods: Placental tissues from 10 women with severe preeclampsia and 5 normal women were collected at the time of their cesarean section. Five of 10 preeclamptic women were complicated with intrauterine growth restriction (IUGR). Immunohistochemistry and Western blotting was employed to localize junctional proteins (zo-1, occludin and plakoglobin) positive cells. The placental explant culture was performed to investigate if Rk₁ can attenuate the expression of junctional proteins (zo-1, occluding and plakoglobin) induced by deferoxamine-induced hypoxia. Rk₁ was treated at the day 3 and Western blot analysis was performed for protein quantification.

Results: There was no different expression of zo-1 and plakoglobin among all the study groups. Occludin showed negative at the endothelial cells of the terminal villi in both normal and preeclampsia groups. At the endothelial cells of the stem villi, occludin was detected in both normal and severe preeclamptic placenta with normal fetal growth. However, severe preeclampsia with IUGR were decreased expression of occludin at the endothelial cells of the stem villi. When we administered Rk₁ to the placenta treated with DFO, expression of occludin was not different.

Conclusion: The placental expression of zo-1 and plakoglobin were not different among the study groups, while that of occludin was significantly decreased at the endothelium of stem villi in severe preeclampsia with IUGR. Rk-1 showed no effect on the placental junctional proteins. These results suggest that occludin may play a role in pathophysiology of fetal growth restriction in utero.

Key Words: Placenta, Preeclampsia, Intrauterine growth restriction, Junctional protein, Ginsenoside Rk₁

서 론

접 수 일 : 2008. 7. 30.
채 택 일 : 2009. 1. 9.
교신저자 : 박용원
E-mail : ywparkob@yuhs.ac

* 이 논문은 2006년도 연세대학교 논문연구지원 (6-2006-0141)에 의하여 이루어진 것임.

전작간증 (Preeclampsia)은 임신 중 고혈압과 단백뇨를 특징으로 산모의 여러 기관에 영향을 주어 신생아 유병률과 사망률의 증가와 모성 사망의 주요한 원인이 되는 임신 특이성 질환이다. 전작간증의 원인은 아직 뚜렷이 밝혀지

지는 않았으나 태반형성의 이상 (abnormal placentation) 과 내피세포의 기능장애 (endothelial dysfunction)가 중요한 병태생리학적 기전이라고 알려져 있다.¹⁻³

태반의 발달은 세포영양막 (cytotrophoblast)과 상피세포 (epithelial cell)의 분화에 의하는데, 전자간증에서는 세포 영양막이 분화를 잘하지 못해 혈관 내 침투 (invasion)를 못하고 자궁나선동맥 (uterine spiral artery)의 직경이 작은 상태로 계속 있게 되어 태반의 혈류 부족으로 이어지게 된다.^{4,5} 혈관내피세포들의 기능 이상으로 수분이 말초에 저류되는 증상들이 전자간증산모의 각 기관에서 나타나는데, 이 과정이 혈관내피세포의 투과성 (permeability)을 조절하는 접합단백 (junctional protein)의 이상에 의한 것이라고 알려져 이에 관한 연구들이 진행되고 있다.⁶

최근 수삼을 증속하여 만든 홍삼의 사포닌 성분이 항암 작용 및 항산화 작용이 있으며 암, 당뇨 등의 질환 치료에 효과가 있음이 알려져 약제로 다양하게 개발 중이다.⁷ 수삼의 증속 정도를 조절하여 만들어진 선삼 (Sun Ginseng)은 항산화 작용에 효과가 있는 성분들이 특히 증가되어 나타난다. 이 성분들 중 Rk₁이라는 당단백은 항산화 효과와 혈관내피세포의 투과성을 증진시키는 효과가 특히 우수한 것으로 알려져 있다.⁸

따라서 본 실험에서는 중증 전자간증의 산모와 정상 산모의 태반에서 zo-1, occludin, plakoglobin이 세 가지 접합단백의 발현 차이를 비교하여 보고, 정상태반의 저산소 상태로 유발된 전자간증과 비슷한 태반에 ginsenoside Rk₁을 투여한 후에 이들 접합단백의 발현 변화를 확인하고자 한다.

연구 대상 및 방법

1. 연구 대상 산모의 선택

본원 산부인과에 입원하여 분만진통 없이 제왕절개술을 통해 분만한 환자 중에서 정상 산모, 중증 전자간증, 태아 발육지연을 동반한 중증 전자간증의 산모 각각 5명씩 15명의 산모의 태반을 사용하였다. 전자간증은 American College of Obstetricians and Gynecologists (2002)의 정의에 따라 임신 20주 이후에 혈압이 140/90 mmHg 이상이면서 단백뇨가 24시간에 300 mg 이상 혹은 계속적으로 1+dipstick

이상의 소견을 보인 경우로 진단하였다. 중증 전자간증은 수축기 혈압이 160 mmHg 이상 혹은 이완기 혈압이 110 mmHg 이상의 소견을 지속적으로 보이면서 단백뇨가 계속적인 2+ dipstick 이상이거나, 두통, 시력장애, 상복부 통증, 경련의 증세를 보이는 경우, 혈소판 수치가 100,000/mm³ 이하로 감소하는 경우, 알라닌 아미노전이효소 (alanine transaminase, ALT)와 아스파테이트 아미노전이효소 (aspartate transaminase, AST)의 값의 상승이 있는 경우, 혈장크레아티닌 수치가 상승하는 경우, 빈뇨 (oliguria), 폐부종의 소견을 보이는 경우로 정의하였다.⁹ 정상 임부는 산전진찰 동안 혈압이 정상이고 내과 외과 및 산과적 합병증이 없는 산모로 하였다. 산모 중 임신기간 내 감염의 증거가 있거나 다태임신, 당뇨, 조기양막파수, 루푸스항응고질환 (lupus anticoagulant), 기형이나 염색체 이상 등의 이상 임신인 경우는 제외하였고, 임신 전에 고혈압, 신질환, 교원성 혈관질환이 있었던 경우와 흡연력이 있는 경우 역시 제외하였다. 분만 전 스테로이드와 마그네슘을 사용한 경우에 따른 혼란 변수를 없애기 위해 이 약물을 사용하지 않은 중증전자간증인 경우만을 선별하였다. 모든 환자들에게서 사전 동의를 받은 후 실험을 진행하였다.

2. 태반조직의 준비

조직을 관찰하기 위해 태반 외식체배양 (placental explant culture)을 이용하였다. 태반조직을 제대혈관 삽입부 주변 전체 태반 두께의 중앙부에서 1 cm³의 크기로 잘라낸 다음 조직에 붙은 핏덩어리를 제거하기 위하여 무균 식염수로 행구어 내었다. 그 후에 용모 조직을 5~10 mg 조직으로 잘라낸 후 무균 식염수에 담가두었다. 그리고 배양 전에 2~3번 더 광범위하게 씻어낸 후 질소탱크에 보관하였다.

3. 면역조직화학염색 (immunohistochemistry)

신선한 정상 산모의 태반 조직을 4% paraformaldehyde로 처리하여 섭씨 4도에서 보관한 후 파라핀 포매 조직을 제작하였다. 제작된 파라핀포매조직을 섭씨 38도의 열판과 섭씨 60도의 오븐에서 각 2시간 동안 둔 후 파라핀 제거와 함께 탈수과정 (dehydration)을 거쳤다. Xylene에 슬라이드를 넣은 후 5분씩 3회 반복하여 탈파라핀을 시행 후 100%,

90%, 70% 알코올에 슬라이드를 1분씩 두어 xylene이 빠지도록 하였다. 내인성 peroxidase의 활성을 억제하기 위해 3% 과산화수소수 (H_2O_2)에 10분간 담갔다. Epitope retrieval을 위해 citrate buffer를 넣고 10분간 예열 후 slide를 넣고 15분간 데웠다. 증류수에 슬라이드를 담구어 20분간 식힌 후 세척 완충액 (wash buffer)에 5분간 담갔다. 그 후 peroxidase-blocking reagent 200 μ L를 떨어뜨리고 10분간 처리하고 슬라이드를 꺼내어 citrate buffer에 3분간 담근 후 (3회 반복), 슬라이드를 완충액에서 꺼내어 잘 털어준 다음 미리 희석해둔 일차항체와 음성대조시약을 1:25로 희석하여 각각의 검체에 떨어뜨린 다음 습성배양기 (wet incubator box)에 마르지 않도록 뚜껑을 잘 덮어서 실온에서 1시간 반응시켰다. 슬라이드를 꺼내어 세척 완충액에 3분간 담근 후 발색시약 200 μ L를 각각의 검체에 떨어뜨린 다음 습성배양기에 마르지 않도록 뚜껑을 잘 덮어서 30분간 습성시킨 후, 슬라이드를 꺼내어 세척 완충액에 3분간 담갔다 (3회 반복). 슬라이드를 완충액에서 꺼내어 잘 털어준 후 미리 만들어 놓은 substrate-chromogen solution 200 μ L를 각각의 검체에 떨어뜨린 다음 습성배양기에 10분간 습성시켰다. 슬라이드를 꺼내어 증류수에 헹구고, 슬라이드를 hematoxylin bath에 1분간 담근 후, 슬라이드를 꺼내어 다시 증류수에 헹꼈다. 100%, 90%, 70% 알코올에 1분씩 둔 후, xylene에 슬라이드를 넣은 후 10분간 두었다. Hostomount를 사용하여 cover slip으로 mount하였다. Low pH citrate buffer에서 microwave oven antigen retrieval을 시행 후 각각 zo-1, occludin, plakoglobin에 대한 항체 [rabbit anti-zo-1, anti-occludin, anti-plakoglobin (Zymed Laboratories Inc, CA)]를 이용하여 면역조직화학염색을 시행하였다. 염색 강도는 환자의 정보를 알지 못하는 두 명의 관찰자가 400배로 확대된 영상에서 임의로 3군데를 지정하여 혈관내피세포의 염색 강도를 점수화하여 이 평균값을 이용하였다. 염색강도의 점수화는 염색이 되지 않았을 때 0점, 염색양성을 보이는 혈관내피세포가 전체의 10% 미만일 때 1점, 염색이 약하게 되거나 염색양성이 10%에서 25%일 때 2점, 중등도의 염색강도, 염색양성이 25%에서 50%일 때 3점, 강한 염색강도, 염색양성이 50% 이상일 때 4점을 주어 평균값을 구한 후 3점 이상일 경우 발현됨으로 판정하였다.

4. 태반조직의 배양 및 Rk₁의 처리

보관된 태반 조직에서 3~5개의 태반엽 (cotyledone)들을 추출하여 생리 식염수로 씻어주고 Hank's balanced salt solution (HBSS)이 있는 용기에서 잘게 잘라주었다. 24개의 우물판 (well-plate)에 5~10 mg 정도가 되도록 조직 조각들을 넣어주고, 저산소 상태를 유도하기 전에 37도, 5% CO_2 조건에서 Rosewell Park Memorial Institute (RPMI) 1,640 (10% FBS+0.1% Antibiotics, SIGMA-ALDRICH Co., St. Louis, MO) 용액을 배지로 하여 24시간 동안 배양하였다. 위에서 배양된 태반조직을 모두 새로운 배지로 바꾸어주고 절반 분량은 섭씨 37도, 5% CO_2 및 정상산소 조건에서 그대로 배양한 한편, 절반 분량은 저산소 상태의 유도를 위하여 40 μ mol의 deferoxamine (DFO)을 넣어 저산소 상태를 만들어 주었다.¹⁰ 이 중에서 일부는 배양 3일째에 5 μ g/mL의 Rk₁을 첨가하여 2일간 더 배양하였다.

5. Western blotting

단백발현 및 활성 상태를 알기 위해 막자 사발을 통해 분쇄시킨 태반조직 샘플들 (정상군과 전자간증군)에 protein lysis buffer (Cell Signaling Technology, Inc.)를 넣고 lysis buffer 내에서 ice에 10분간 incubation한 후 섭씨 4도에서 원심분리기에서 1,400 rpm으로 가라앉힌 후 상층액 (cell extraction)을 얻었다. 단백질 정량은 Bio-Rad DC protein assay (Bio-Rad, Hercules, CA)를 이용하였다. 이렇게 얻은 단백질은 환원제를 포함하는 mini-SDS-PAGE gel (6%) electrophoresis를 통해 분리시켰다. 전기영동 후 젤을 PVDF membrane (Amersham Pharmacia Biotech, Piscataway, N.J., USA)에 상온에서 blotting한 후 5% nonfat dry milk/PBS (TPBS)로 2시간 상온에서 blotting하였다. 섭씨 4도에서 각 단백질에 대한 항체를 40:1,000의 농도로 희석하여 밤샘처리하고, TBST washing buffer로 10분씩 3번 씻어주었다. Washing 후 secondary antibody Anti-rabbit monoclonal IgG (Amersham, Buckinghamshire, England)를 상온에서 1시간 처리하고, TBST로 10분씩 3번 씻어주었다. 2차 항체는 5% nonfat dry milk/PBS (TPBS)에 1:1,000으로 희석하여 사용하였다. ECL reagents (Amersham Life Science, Buckinghamshire, UK) I, II를 1:1로 섞어

membrane과 1분 정도 반응시켰다. hyper X-ray film에 5분, 10분, 30분 노출시켜 얻은 결과에서 단백질 양의 정량화를 위해 laser densitometer와 analysis software (IMAGE READER LAS-100 lite, Fuji Photo Film Co, Ltd., Japan)를 이용하여 분석하였다.

결 과

태반의 접합단백질에 대한 면역화학염색에서 치밀이음부 (tight junction) 단백질인 zo-1은 줄기용모 (stem villi)와 종말용모 (terminal villi)의 혈관내피세포에서 전자간증에 상관 없이 모두 발현되었다. 다른 치밀이음부 단백질인 occludin은 줄기용모의 혈관내피세포만 발현되었으나 태아발육지연을 동반한 중증 전자간증 태반에서는 줄기용모의 혈관내피세포에서의 발현이 감소되었다. 부착이음부 (adherens junction) 단백질인 plakoglobin은 줄기용모의 내피세포에서 발현되었으며 종말용모에서는 발현되지 않

았으며 중증 전자간증 태반에서도 발현 차이를 보이지 않았다 (Fig. 1, Table 1). 정상태반과 태아발육지연을 동반한 중증 전자간증 태반을 이용한 Western blot에서도 zo-1과 plakoglobin은 발현의 차이가 없었으나 occludin의 경우 태아발육지연을 동반한 태반에서는 줄기용모의 내포세포에서 현저한 발현의 감소를 확인할 수 있었다 (Fig. 2). 정상 태반을 deferoxamine 처리를 하였을 때 태아발육지연을 동반한 중증 전자간증 태반과 같이 접합단백의 변화를 유도할 수 있었고, 이를 다시 5 μ g/mL의 Rk₁을 처리했을 때 감소되었던 occludin의 발현 변화를 관찰할 수 없었다 (Fig. 3).

고 찰

내피세포에 존재하는 치밀이음부는 상피세포 (epithelium)나 뇌에 있는 것과는 구조적, 위치적으로 다른 특징을 가지고 있다. 혈관계에서의 위치에 따라서도 다양해 큰 혈관에서는 단단하게 유지되지만 작은 모세혈관 이후 정맥계에서는

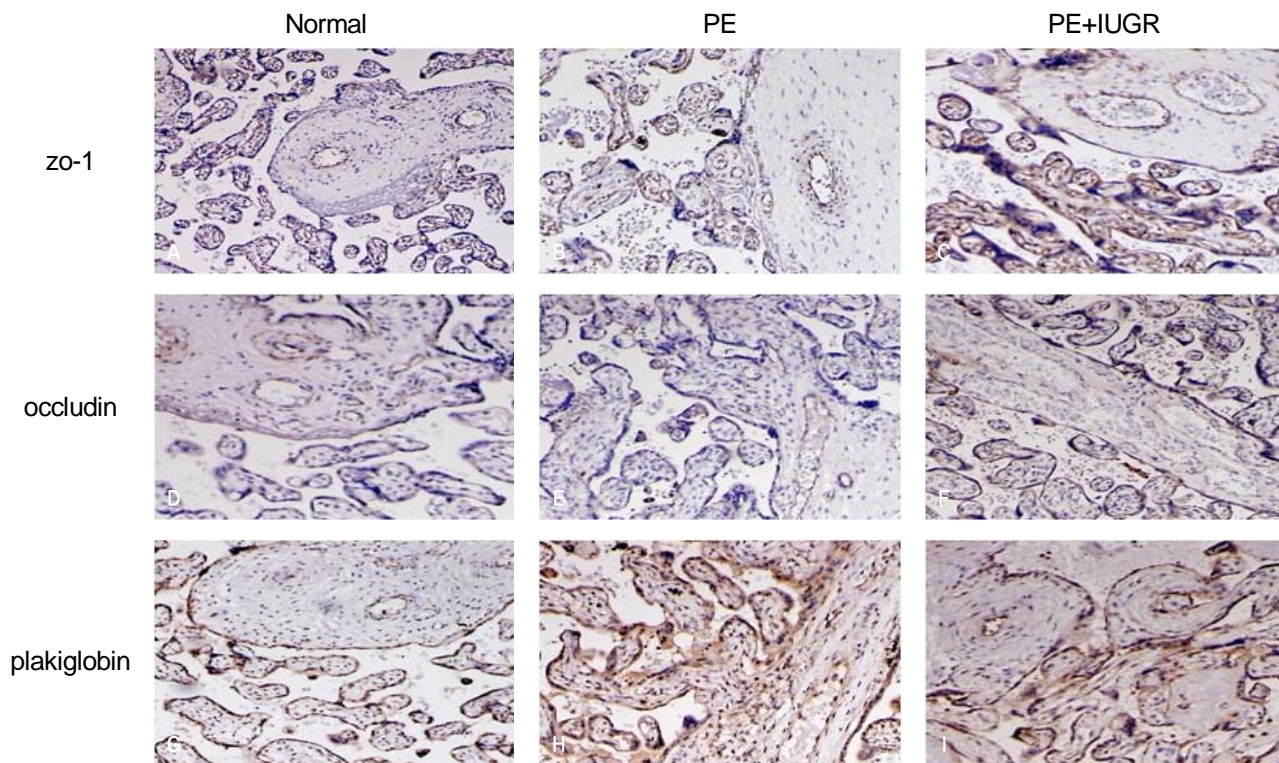
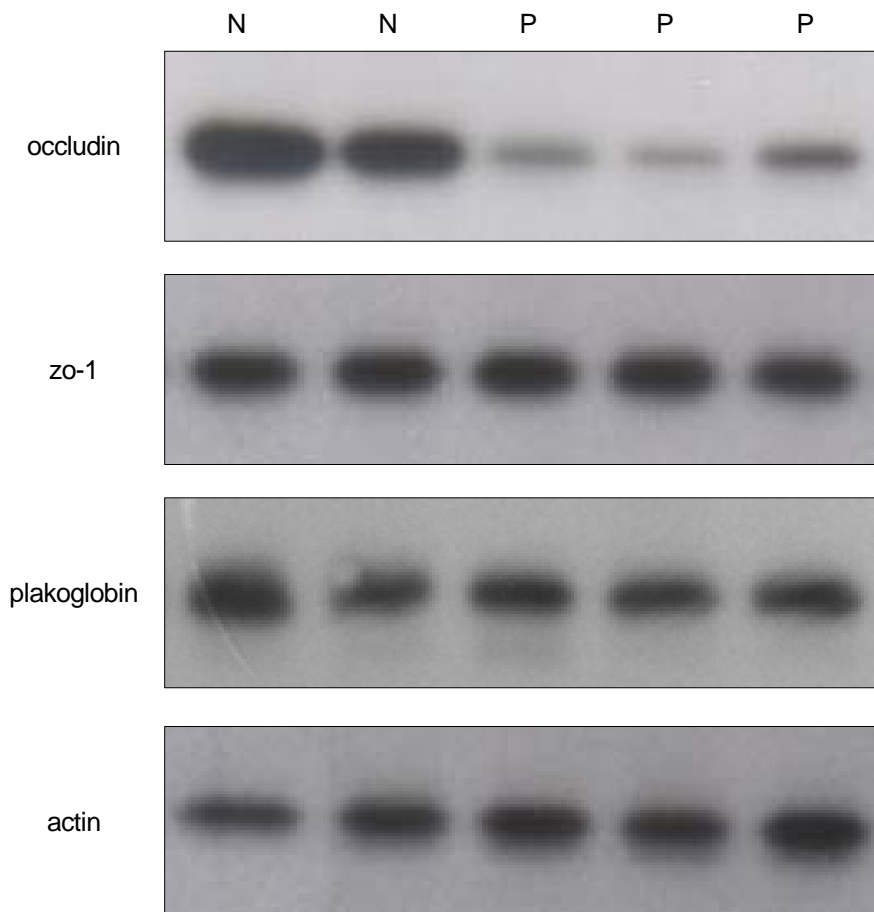


Fig. 1. Distribution of Junctional proteins in human placenta by immunohistochemistry ($\times 100$). Occludin was detected in both normal and severe preeclamptic placenta with normal fetal growth at the endothelial cells of the stem villi (D)(E). Severe preeclampsia with IUGR were decreased expression of occludin at the endothelial cells of the stem villi (F). PE : preeclampsia, IUGR : intrauterine growth restriction.

Table 1. Distribution of Junctional proteins in human placenta

	Junctional proteins	Normal	PE	PE with IUGR
Stem villi	zo-1	+	+	+
	occludin	+	+	-
	plakoglobin	+	+	+
Terminal villi	zo-1	+	+	+
	occludin	-	-	-
	plakoglobin	-	-	-

PE: preeclampsia, IUGR: intrauterine growth restriction.


Fig. 2. Expression of junctional proteins of human placenta in normal (N) and preeclampsia with IUGR (P) by Western blot.

느슨하게 이어져 있다.¹¹ 치밀이음부 단백질은 adaptor protein과 integral protein으로 나누어진다.¹² Adaptor protein인 zo-1은 세포막 아래에 위치하는 당단백의 일종으로 세포 사이 물질의 이동과 내피세포에서 물질 이동을 조절하는 기능을 하며 세포의 성장과 분화에도 영향을 미치는 것으로 알려져 있다.^{13,14} Integral protein의 일종인 occludin은 치밀이음부의 뼈대를 이루는 구조이다. Occludin이

과발현되면 세포 사이의 저항성이 증가되고 occludin의 기능저하는 물질의 유출을 증가시키는 것이 보고되었으나 아직 그 역할은 명확하지 않다.^{15,16} 인간의 태반을 가지고 시행한 연구에서 zo-1은 모든 크기의 혈관계에 다 발현되고 occludin은 큰 혈관에서만 발현되고 미세혈관에서는 발현되지 않았다.^{17,18} 전자간증 태반에서는 occludin과 zo-1의 발현차이가 없다는 연구가 있었다.¹⁹ 반면 인간제대정맥내

피세포 (HUVEC)에서는 occludin이 감소한다는 발표가 있는 등 아직 전자간증에서 치밀이음부단백의 기능에 대해서는 많은 연구가 진행 중이다.²⁰

본 실험에서는 adaptor protein인 zo-1은 전자간증에 상관없이 모든 크기의 혈관에 분포하였고 integral protein인 occludin은 정상 태반과 태아의 정상발육을 보인 중증 전자간증 태반에서 줄기용모의 혈관에서 발현되었다. 반면, 태아발육지연을 보인 중증 전자간증 태반의 큰 혈관인 줄기용모의 혈관에서는 occludin의 발현이 감소되었음을 확인할 수 있었다. Lievano 등의 연구에서는 정상 태반과 전자간증의 태반에서 occludin은 큰 혈관에서만 발현됨을 보고하였지만 태아발육지연의 유무에 따른 태반 연구는 이루어지지 않았다.¹⁹

내피세포 사이의 투과성과 안정성에 영향을 주는 부착이음부는 VE-cadherin과 catenin으로 구성된다. 또한 이는 내피세포의 분화에도 관여하는 것으로 알려져 있다.^{21,22}

VE-cadherin은 모든 종류의 내막세포에는 다 발현하며 혈관내막의 관문의 역할을 유지한다.²³ Catenin은 α , β , γ -catenin으로 이루어져 있으며 γ -catenin이라고도 불리는 plakoglobin은 세포접합에 관여하며 혈관내피세포에 발현되어 있다고 알려져 있다.²⁴ 전자간증산모의 제대정맥내 피세포를 살펴본 실험에서 VE-cadherin과 occludin의 표현 감소와 비정형화 소견이 관찰되었고 단일 세포층의 투과도도 증가한 결과를 보였다.²⁰ 본 실험에서는 plakoglobin (γ -catenin)은 전자간증과는 무관한 발현을 보였으며 태반의 줄기용모의 큰 혈관에서만 관찰되었다.

본 실험에 의하면 태아발육지연을 동반한 중증 전자간증에서만 치밀이음부 단백질인 occludin의 발현 감소를 보였다. Deferoxamine 처치를 한 태반조직에서도 이와 비슷한 양상의 접합단백 발현을 보였다. Occludin은 정상태반에서도 종말용모 내의 혈관에서는 발현되지 않았고 이는 종말용모에서의 자유로운 물질의 교환을 가능하게 한다.

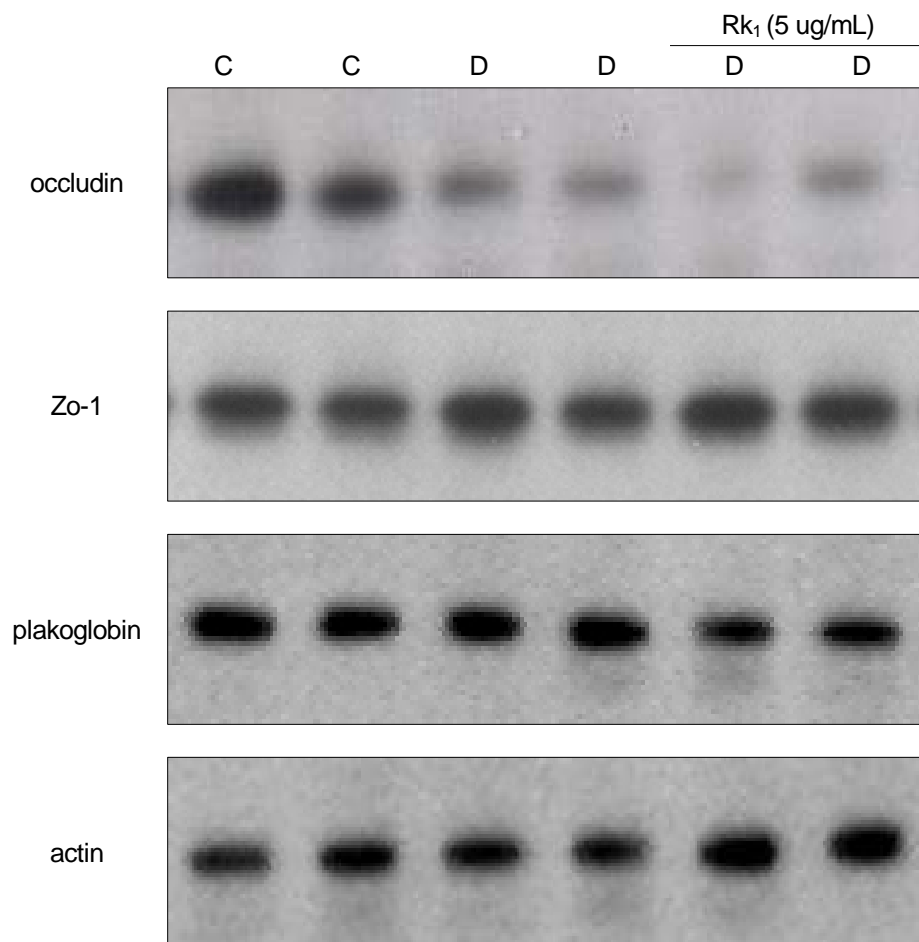


Fig. 3. Expression of junctional proteins in human placenta. Differential expression of occludin were analyzed in normal (C), deferoxamine treated (D) and Rk₁ treated placenta (D, Rk₁) by Western blot.

큰 혈관인 줄기용모의 혈관에서 occludin은 혈관완전성 (vascular integrity)와 안정성 (stability)를 위해 필수적이다. 하지만 태반 내 큰 혈관에서의 occludin 감소로 인하여 혈관의 완전성과 안정성이 깨어지고 결국 임상적으로 전자간증에 있어 태아발육지연을 동반하게 된다고 유추할 수 있다.

Ginsenoside의 내피세포에 대한 작용은 여러 연구를 통하여 밝혀지고 있다. Ginsenoside는 인간제대정맥혈관내피세포에서 저산소 손상에 대한 보호작용 및 손상된 내피세포의 회복에 효과있으며 내피세포증식을 증가시킨다.^{25,26} 이와 같은 ginsenoside의 효과를 극대화하기 위해 수삼의 증숙도 (heat process)를 조절한 선삼의 추출물질인 Rk₁의 작용을 손상된 태반조직에 적용하였다. DFO를 이용해 배

양된 정상 태반조직에 저산소 상태를 유도하여 태반에 손상을 준 후 Western blot으로 접합단백의 발현 양상을 확인한 결과 태아발육지연을 동반한 중증 전자간증 태반과 동일한 양상이 관찰되었다. 이 태반의 배양체에 Rk₁을 처리하여 배양하는 방법으로 실험을 진행하였다. 하지만, Rk₁ 처리 후에도 감소되었던 occludin의 발현이 증가함을 보이지 않았다. 본 연구는 태반 조직의 외식체 배양을 이용하여 접합단백의 발현 양상을 확인하였다. 추후 전자간증의 원인 중 하나로 제시되고 있는 접합단백의 규명과 이들 접합단백의 변화에 영향을 미치는 성분의 효과를 규명하기 위해서는 순수태반혈관내피세포의 배양 (pure placental endothelial culture)이 필요할 것으로 사료된다.

참고문헌

1. Roberts JM, Taylor RN, Musci TJ, Rodgers GM, Hubel CA, McLaughlin MK. Preeclampsia: an endothelial cell disorder. *Am J Obstet Gynecol* 1989; 161: 1200-4.
2. Roberts JM, Taylor RN, Goldfien A. Clinical and biochemical evidence of endothelial cell dysfunction in the pregnancy syndrome preeclampsia. *Am J Hypertens* 1991; 4: 700-8.
3. Solomon CG, Seely EW. Preeclampsia -- searching for the cause. *N Engl J Med* 2004; 350: 641-2.
4. Zhou Y, Damsky CH, Chiu K, Roberts JM, Fisher SJ. Preeclampsia is associated with abnormal expression of adhesion molecules by invasive cytotrophoblasts. *J Clin Invest* 1993; 91: 950-60.
5. Zhou Y, Damsky CH, Fisher SJ. Preeclampsia is associated with failure of human cytotrophoblasts to mimic a vascular adhesion phenotype. One cause of defective endovascular invasion in this syndrome? *J Clin Invest* 1997; 99: 2152-64.
6. Zhang Y, Zhao S, Gu Y, Lewis DF, Alexander JS, Wang Y. Effects of peroxynitrite and superoxide radicals on endothelial monolayer permeability role of peroxynitrite in preeclampsia. *J Soc Gynecol Investig* 2005; 12: 586-92.
7. 김정선, 김규원, 최강주, 광영규, 임광식, 이경희 등. 홍삼 사포닌의 항산화활성 성분 Screening. *고려인삼학회지* 1996; 20: 173-8.
8. Park IH, Kim NY, Han SB, Kim JM, Kwon SW, Kim HJ, et al. Three new dammarane glycosides from heat processed ginseng. *Arch Pharm Res* 2002; 25: 428-32.
9. ACOG Committee on Practice Bulletins-- Obstetrics. ACOG practice bulletin. Diagnosis and management of preeclampsia and eclampsia. Number 33, January 2002. *Obstet Gynecol* 2002; 99: 159-67.
10. Baumann MU, Zamudio S, Illsley NP. Hypoxic up-regulation of glucose transporters in BeWo chorioncarcinoma cells is mediated by hypoxia-inducible factor-1. *Am J Physiol Cell Physiol* 2007; 293: C477-85.
11. Bazzoni G, Dejana E. Endothelial cell-to-cell junctions: molecular organization and role in vascular homeostasis. *Physiol Rev* 2004; 84: 869-901.
12. González-Mariscal L, Betanzos A, Nava P, Jaramillo BE. Tight junction proteins. *Prog Biophys Mol Biol* 2003; 81: 1-44.
13. González-Mariscal L, Namorado MC, Martin D, Luna J, Alarcon L, Islas S, et al. Tight junction proteins ZO-1, ZO-2, and occludin along isolated renal tubules. *Kidney Int* 2000; 57: 2386-402.
14. Balda MS, Garrett MD, Matter K. The ZO-1-associated Y-box factor ZONAB regulates epithelial cell proliferation and cell density. *J Cell Biol* 2003; 160: 423-32.
15. Balda MS, Whitney JA, Flores C, González S, Cereijido M, Matter K. Functional dissociation of paracellular permeability and transepithelial electrical resistance and disruption of the apical-basolateral intramembrane diffusion barrier by expression of a mutant tight junction membrane protein. *J Cell Biol* 1996; 134: 1031-49.
16. Saitou M, Furuse M, Sasaki H, Schulzke JD, Fromm M, Takano H, et al. Complex phenotype of mice lacking occludin, a component of tight junction strands. *Mol Biol Cell* 2000; 11: 4131-42.
17. Leach L, Lammiman MJ, Babawale MO, Hobson SA, Bromilou B, Lovat S, et al. Molecular organization of tight and adherens junctions in the human placental vascular tree. *Placenta* 2000; 21: 547-57.
18. Leach L, Babawale MO, Anderson M, Lammiman M. Vasculogenesis, angiogenesis and the molecular organisation of endothelial junctions in the early human placenta. *J Vasc Res* 2002; 39: 246-59.
19. Liévano S, Alarcón L, Chávez-Munguía B, González-Mariscal L. Endothelia of term human placenta display diminished expression of tight junction proteins during preeclampsia. *Cell Tissue Res* 2006; 324: 433-48.
20. Wang Y, Gu Y, Granger DN, Roberts JM, Alexander JS. Endothelial junctional protein redistribution and increased monolayer permeability in human umbilical vein endothelial cells isolated during preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol* 2002; 186: 214-20.
21. Carmeliet P, Lampugnani MG, Moons L, Breviario F, Compernelle V, Bono F, et al. Targeted deficiency or cytosolic truncation of the VE-cadherin gene in mice impairs VEGF-mediated endothelial survival and angiogenesis. *Cell* 1999; 98: 147-57.

22. Conacci-Sorrell M, Zhurinsky J, Ben-Ze'ev A. The cadherin-catenin adhesion system in signaling and cancer. *J Clin Invest* 2002; 109: 987-91.
23. Lampugnani MG, Resnati M, Raiteri M, Pigott R, Pisacane A, Houen G, et al. A novel endothelial-specific membrane protein is a marker of cell-cell contacts. *J Cell Biol* 1992; 118: 1511-22.
24. Leach L. The phenotype of the human materno-fetal endothelial barrier: molecular occupancy of paracellular junctions dictate permeability and angiogenic plasticity. *J Anat* 2002; 200: 599-606.
25. Xin X, Liu J, Li X, Zhong J, Wei D. Extraction of 20(S)-ginsenoside Rg2 from cultured Panax notoginseng cells in vitro stimulates human umbilical cord vein endothelial cell proliferation. *Am J Ther* 2006; 13: 205-10.
26. He F, Guo R, Wu SL, Sun M, Li M. Protective effects of ginsenoside Rb1 on human umbilical vein endothelial cells in vitro. *J Cardiovasc Pharmacol* 2007; 50: 314-20.

= 국문초록 =

목적: 정상 산모와 전자간증 태반의 접합단백 (junctional protein)의 발현 차이를 규명하고 항산화 효과가 알려진 선삼 추출물인 ginsenoside Rk₁을 저산소 처리된 태반에 투여하여 접합단백에 대한 효과를 확인한다.

연구 방법: 5명의 전자간증 산모와 5명의 태아의 자궁내성장지연을 동반한 전자간증 산모, 5명의 정상 산모의 태반에서 면역조직화학염색 및 Western blot을 시행하여, zo-1, occludin, plakoglobin의 발현 차이를 확인하였다. Deferoxamine (DFO) 처리한 태반절편에 Rk₁을 투여하여 배양한 후 Western blot으로 접합단백의 발현 변화를 확인하였다.

결과: zo-1과 plakoglobin의 발현은 실험군간의 차이가 없었으나, occludin은 정상 태반과 전자간증 태반에 비해 자궁내성장지연을 동반한 전자간증 산모의 태반에서 현저하게 감소하였다. DFO 처리한 태반에 Rk₁을 투여했을 때 occludin의 발현 회복은 관찰할 수 없었다.

결론: 자궁내성장지연을 동반한 전자간증 태반에서만 occludin은 감소되는 것으로 보아 전자간증에서 occludin의 발현 감소가 자궁내성장지연을 유발하는 병태생리학적 원인에 있어서 역할을 함을 유추할 수 있다. 본 실험에서 항산화 효과를 가진 것으로 알려진 Rk₁은 전자간증 태반의 접합단백에 대한 효과를 보이지 않았다.

중심단어: 태반, 전자간증, 자궁내성장지연, 접합단백, Ginsenoside Rk₁
